PENGARUH EKSTRAK SERBUK KAYU SIWAK (*Salvadora persica*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Streptococcus mutans* DAN *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI LEMPENG AGAR

Oleh :
Moch Rachdie Pratama*

ABSTRACT

Siwak (*Salvadora persica*) or called chewing stick is frequently used in Saudi Arabia and Middle East. The antimicrobial effects of siwak has been well documented. This study was designed to investigate the antibacterial effect of the extract of the siwak stick powder to the Growth of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus* aureus in vitro. Disc agar diffusion method are used in this study. The extract of siwak stick powder concentration were used for the study are 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100%. These various concentrations resulted different clear zone and showed the high percentage of the concentration, the high diameter of clear zone shown. The biggest diameter is showed by the concentration of 100% level, it is about 16.33 mm for *S. mutans* and 15.83 mm for *S. aureus*. The lowest one is showed by the concentration of 10% level that about 11.33 mm for *S. mutans* and 11 mm for *S. aureus*. Duncan's Test showed that there were no significant differences in the concentration 10% of *S. Mutans* and *S. aureus* with the control. The extract of siwak stick powder according to Ahn *et al* (1994) classification, is categorized as the weak antibacterial at the concentration 10% to 60% level and as the intermediate antibacterial at the concentration 70% to 100% level.

Keywords : Siwak, *Salvadora persica*, Disc Agar Diffusion, *Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus*.

BAB I
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penggunaan kayu siwak (*Salvadora persica*) telah dikenal semenjak berabad-abad lalu, terutama oleh bangsa Arab kuno yang hingga sekarang masih digunakan sebagai alat kebersihan mulut. Faktor sosial dan agama menjadi pendorong utama penggunaan kayu siwak (*Salvadora persica*) terutama bagi masyarakat muslim. Suatu studi komparatif *periodontal treatment* yang dilakukan terhadap pengguna siwak dengan non pengguna siwak menunjukkan bahwa tingkat masyarakat pengguna siwak memiliki level *periodontal treatment* yang lebih rendah dibandingkan masyarakat non pengguna siwak (Al-Lafi dan Ababneh, 1995).

Penelitian tentang analisa kandungan batang kayu siwak kering (*Salvadora persica*) dengan ekstraksi menggunakan etanol 80% kemudian dilanjutkan dengan ether lalu diteliti kandungannya melalui prosedur kimia ECP (*Exhaustive Chemical Procedure*) menunjukkan bahwa siwak mengandung zat-zat kimia seperti : trimetilamin, alkaloid yang diduga sebagai salvadorin, klorida, sejumlah besar fluorida dan silika, sulfur, vitamin C, serta sejumlah kecil tannin, saponin, flavenoid dan sterol. (El-Mostehy, *et. al.*, 1995). Diantara zat-zat kimia tersebut bersifat antibakterial yang sangat efektif dalam membunuh dan menghambat beberapa pertumbuhan bakteri dan antifungal (al-Lafi dan Ababneh, 1995; Darout *et. al.*, 2000).

Darout dkk. (2000) melaporkan bahwa komponen kimiawi ekstrak kayu siwak sangat ampuh dalam menghilangkan plak dan mereduksi virulensi bakteri *periodontopathogenic*. Kandungan anionik alami dalam siwak dipercaya sebagai antimikrobial efektif di dalam menghambat dan membunuh mikrobial. Seperti Nitrat dilaporkan mempengaruhi transpor aktif porline pada *Eschericia coli* dan terbukti ampuh pula di dalam menghambat fosforilasi oksidatif dan pengambilan oksigen *Pseudomonas aureginosa* dan

Staphylococcus aureus. Hipotiosianat menunjukkan bereaksi dengan grup sulfihidril dalam enzim bakteri yang dapat menyebabkan kematian bakteri.

Zat antimikrobial merupakan zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (Boyd and Marr, 1980). Al-Lafi dkk (1995) telah menguji aktivitas antibakterial dari kayu siwak untuk menghambat beberapa bakteri mulut yang aerob dan anaerob. Menurut hasil penelitian Gazi dkk. (1987), ekstrak kasar kayu siwak yang dijadikan cairan kumur dan dikaji sifat-sifat antiplaknya beserta efeknya terhadap bakteri penyusun plak menyebabkan penurunan drastis bakteri gram negatif batang.

Almas (2003) meneliti efektifitas ekstrak siwak 50% dibandingkan dengan CHX (*Chlorhexidine Gluconate*) 0,2% pada dentin manusia secara SEM (*Scanning Electrony Microscopy*) menunjukkan bahwa ekstrak siwak 50% memiliki hasil yang sama dengan CHX 0,2% di dalam perlindungan dentin, namun ekstrak siwak 50% lebih dapat menghilangkan *smear layer* pada dentin dibandingkan CHX 0,2%.

Streptococcus mutans merupakan bakteri patogen pada mulut yang merupakan agen utama penyebab timbulnya plak, gingivitis dan caries gigi (Lee *et al.*, 1992). Bakteri ini diujikan untuk melihat efektifitas ekstrak serbuk kayu siwak terhadap bakteri patogen mulut.

Sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab intoksitasi dan terjadinya berbagai macam infeksi seperti pada jerawat, bisul, pneumonia dan lainnya (Supardi dan Sukamto, 1999). Penulis sengaja menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk melihat kemampuan ekstrak serbuk kayu siwak terhadap bakteri patogen pada kulit dan luka ini.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan uji antibakterial ekstrak serbuk kayu siwak (*S. persica*) dengan metode difusi lempeng agar dengan mengukur diameter zona terang (*Clear zone*) yang mana hasil pengukuran merupakan respon penghambatan pertumbuhan yang akan diklasifikasikan menurut Ahn dkk. (1994).

1.2. Permasalahan

Permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh ekstrak serbuk kayu siwak (*S. persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus.*

1.3. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak serbuk kayu siwak (*S. persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus.*

1.4 Hipotesis

Semakin tinggi ekstrak serbuk kayu siwak maka daya hambat terhadap bakteri juga semakin besar.

1.5. Manfaat

Ekstrak serbuk kayu siwak (*Salvadora persica*) mengandung bahan-bahan kimiawi yang dapat menekan aktivitas mikrobial dan menghambat pertumbuhannya. Penelitian daya hambat ekstrak serbuk kayu siwak (*Salvadora persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang patogen terhadap mulut, dapat menunjukkan kemampuan ekstrak serbuk kayu siwak sebagai salah satu alternatif zat antibakterial yang dapat dikembangkan sebagai komoditas *oral cleaner device* (alat pembersih mulut) yang higinis dan efektif dalam mencegah *periodontal disease.*

Penelitian terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan patogen pada saluran pernapasan, kulit dan luka dapat pula menunjukkan bahwa ekstrak serbuk kayu siwak bukan hanya efektif sebagai komponen antibakterial mulut, namun juga efektif dengan spektrum lebih luas.

BAB II
METODOLOGI

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian Tugas Akhir ini dilaksanakan pada bulan Mei 2005 sampai bulan Juli 2005 di Laboratorium Biologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

dan proses ekstraksi kayu siwak dilaksanakan di Laboratorium Penelitian, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

2.2. Cara Kerja

2.2.1. Tahap Persiapan

2.2.1.1 Ekstraksi kayu siwak

Serbuk siwak dari PT MISWAK diekstrak dengan *Maseration Tube* dan *Rotary Evaporator Unit* di Laboratorium Penelitian, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITS Surabaya.

2.2.1.2. Sterilisasi alat dan Bahan

Cawan Petri, Tabung Reaksi, erlenmeyer, Penjepit, Spatula, Media Blood Agar, Media Brain Heart Infusion Broth, dan seluruh alat dan bahan (kecuali ekstrak serbuk kayu siwak) yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoclave selama 20 menit dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm^3 (1 atm) dan suhu sebesar 121° C setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas. (Capuccino dan Sherman, 2001, Pelszar, 1986)

2.2.1.3 Pembuatan stok suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan untuk perbanyakan stok, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni ke dalam 10 ml *Brain Heart Infusion* (BHI), kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam di dalam inkubator. Kemudian diencerkan dengan cara diambil dengan pipet sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam media BHI 9,9 ml lalu divortex hingga homogen untuk mendapatkan pengenceran suspensi sebesar 10^{-2}. Dari suspensi 10^{-1} diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml BHI lalu divortex hingga homogen untuk mendapatkan pengenceran 10^{-3}.

2.2.1.4 Pembuatan stok variabel konsentrasi

Stok konsentrasi yang akan divariasikan adalah mulai dari 0% (kontrol), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% (kontrol) yang kesemuanya berjumlah 11 variabel. Ekstrak diencerkan dengan aquades steril dan hasilnya dicampur agar homogen dengan vortex.

2.2.2 Tahap Pengujian

2.2.2.1 Uji penghambatan pertumbuhan bakteri

Cawan petri yang berisi media blood agar sebanyak kurang lebih 10 ml diberi suspensi bakteri sebanyak kurang lebih 0,5 ml dan diratakan ke dalam cawan Petri. Air sisa suspensi dibuang untuk menghindarkan terjadinya *spreader*. Setelah itu Media didinginkan hingga memadat.

Setiap bakteri yang diujikan untuk setiap variasi konsentrasi ekstrak serbuk kayu *Salvadora persica* memerlukan 3 cawan petri, dimana dalam satu cawan petri diujikan dengan 4 kertas cakram, kecuali 1 cawan yang berisi 2 cakram dengan variabel yang sama. Kertas cakram yang telah ditetesi sebanyak 0,1 ml stok suspensi konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak tadi diletakkan di atas permukaan agar secara higinis di dalam *Laminar Air Flow*.

Kertas cakram yang digunakan adalah kertas *Whatman*™ dengan diameter sebesar 10 mm (1 cm) yang memiliki pori-pori rapat (0.05 mikropore). Kertas cakram sebelum digunakan disterilisasi dengan cara dimasukkan di dalam petridish kemudian disterilisasi di dalam auto-clave pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

Biakan bakteri murni *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* diperbanyak dengan cara pembuatan suspensi bakteri di dalam *Brain Heart Infusion broth*. Suspensi bakteri diinkubasi di dalam inkubator pada suhu optimum pertumbuhan 37° C selama 24 jam. Untuk menghindari terjadinya penebalan pertumbuhan pada media dan *spreader*, suspensi perlu diencerkan menjadi 10^{-3}.

Hal ini perlu dilakukan, karena konsentrasi bakteri pada permukaan media mempengaruhi efek antibakterial. Jika semakin tinggi konsentrasi bakteri, maka zona penghambatan akan semakin kecil. (Greenwood, 1995). Jika jumlah volume suspensi bakteri tidak sama, maka akan turut memberikan pengaruh pada pembentukan zona terang.

Kertas cakram ditetesi sebanyak 0,1 ml variasi konsentrasi ekstrak untuk mendapatkan jumlah/volume ekstrak yang seragam antar tiap perlakuan. Hal ini perlu dilakukan untuk mendapatkan volume ekstrak yang sama antar tiap perlakuan, karena jika berbeda akan mempengaruhi pembentukan zona terang. Sebab, jika semakin banyak zat antimikrobial yang diberikan maka zona terang akan semakin besar (Greenwood, 1995).

Lalu media diinkubasi ke dalam inkubator. Inkubasi dilakukan pada suhu 37° C selama 24 jam, kemudian diukur diameter zona terang (clear zone) dengan menggunakan penggaris (milimeter). Tabel 3.1 menunjukkan respon hambatan pertumbuhan bakteri diklasifikasikan menurut Ahn, dkk. (1994). Perlakuan dilakukan dengan repetisi sebanyak 3 kali.

Tabel 2.1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Ahn dkk, 1994)

Diameter Zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
< 10 mm	Tidak ada

2.2.2.2 Analisis Data

Untuk menganalisis data hasil penelitian, dipergunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dianalisa dengan Analisis Varian (Anava) satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada tiap perlakuan dan dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5 %.

BAB III
HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*)

Serbuk kayu siwak yang diekstrak secara kimiawi dilaporkan menunjukkan kandungan trimetilamin, klorida, resin, sejumlah besar fluorida dan silika, sulfur dan vitamin C (El-Mostehy dkk., 1998; Lewis, 1982), tiosianat, sulfat dan alkaloid berupa salvadoricine (Darout, 2000). Kandungan kimiawi ini diduga kuat berpengaruh menurunkan jumlah bakteri dan menyehatkan mulut. (Darout, 2000 dan Lewis, 1982).

3.2 Uji Antibakterial.

Hasil pengujian daya hambat dengan metode difusi lempeng agar terhadap *S. Mutans* dan *S. Aureus* menunukkan hasil yang berbeda dan bervariasi pada tiap perlakuan. Tabel 3.1 dan Tabel 3.2 menunjukkan diameter zona terang yang terbentuk pada variasi konsentrasi dari 0% sampai dengan 100%.

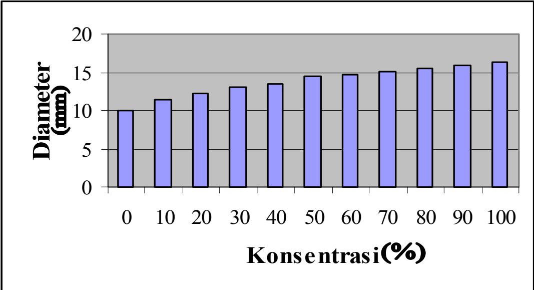
Tabel 3.1. Rata-rata diameter zona terang pada media yang ditumbuhi bakteri *Streptococcus mutans.*

Konsentrasi Ekstrak Serbuk Kayu Siwak	*Streptococcus mutans*
0 %	$10{,}00^{A}$
10 %	$11{,}33^{B}$
20 %	$12{,}2^{C}$
30 %	$13{,}06^{D}$
40 %	$13{,}5^{E}$
50 %	$14{,}5^{F}$
60 %	$14{,}66^{F}$
70 %	$15{,}16^{G}$
80 %	$15{,}5^{G}$
90 %	16^{H}
100 %	$16{,}33^{H}$

Keterangan : Angka-angka pada setiap kolom yang sama didampingi oleh huruf besar yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% dengan metode uji Duncan.

Tabel 3.1 menunjukkan, bahwa diameter zona terang terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 16,33 mm dan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11,33 mm. Hasil uji Duncan pada bakteri *S. mutans* pada konsentrasi 0% sampai dengan 40% berbeda nyata, sedangkan dari konsentrasi 50% sampai dengan konsentrasi 100% tidak berbeda nyata.

Ekstrak serbuk kayu siwak pada konsentrasi 10% menunjukkan beda nyata dengan kontrol (0 %). Hal ini berarti, ekstrak serbuk kayu siwak memberikan hambatan mulai dari konsentrasi 10%, dan seiring dengan kenaikan konsentrasi, maka daya hambat yang dihasilkan juga semakin besar.



Gambar 3.2 : Grafik hubungan antara diameter zona terang dengan konsentrasi siwak pada bakteri *Streptococcus mutans.*

Dari grafik pada gambar 3.2 diatas, tampak bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak, maka zona terang yang dihasilkan juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Greenwood (1995) dan Pelczar (1994) yang menyatakan bahwa jika semakin besar konsentrasi antimikrobial, maka zona hambatan yang terbentuk juga semakin besar.

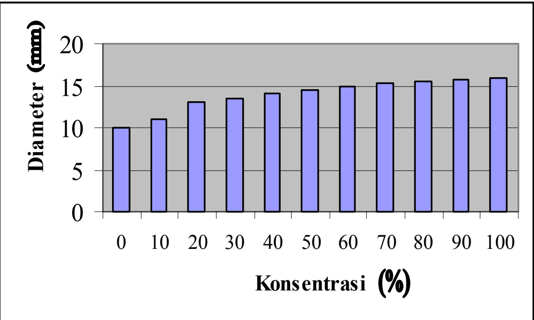
Tabel 3.2. Rata-rata diameter zona terang pada media yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus.*

Konsentrasi Ekstrak Serbuk Kayu Siwak	*Staphylococcus aureus*
0 %	10,00[A]
10 %	11[B]
20 %	13[C]
30 %	13,5[CD]
40 %	14[DE]
50 %	14,56[EF]
60 %	15[FG]
70 %	15,3[FGH]
80 %	15,5[GH]
90 %	15,66[GH]
100 %	15,83[I]

Keterangan : Angka-angka pada setiap kolom yang sama didampingi oleh huruf besar yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% dengan metode uji Duncan.

Tabel 3.2 menunjukkan rata-rata diameter zona terang pada bakteri *Staphylococcus aureus* dimana zona hambatan terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 15,83 mm untuk sedangkan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11 mm.

Hasil uji Duncan pada bakteri *S. aureus* menunjukkan kontrol berbeda nyata dengan konsentrasi 10%. Hal ini berarti daya penghambatan ekstrak serbuk kayu siwak terhadap *S. aureus* dimulai dari konsentrasi 10 % dan seiring dengan pertambahan konsentrasi maka zona hambatan yang dihasilkan juga semakin besar.



Gambar 3.3 : Grafik hubungan antara diameter zona terang dengan konsentrasi siwak pada bakteri *Staphylococcus aureus.*

Grafik pada gambar 3.3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak, maka zona terang yang dihasilkan semakin besar. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Pelczar (1994), bahwa semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobial yang digunakan, maka semakin tinggi pula kemampuannya di dalam mengendalikan mikroorganisme.

Dari data tabel dan grafik pada *S. mutans* dan *S. aureus,* tampak bahwa *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* memiliki zona terang yang berbeda nyata dengan kontrol mulai dari konsentrasi 10%, hal ini menunjukkan sensitivitas bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* adalah sama.

Klasifikasi respon hambatan berdasarkan prekalkulasi Ahn dkk (1994) dari kedua data di atas ditunjukkan oleh Tabel 3.3.

Tabel 3.3. Klasifikasi respon hambatan pada media yang ditumbuhi bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* menurut prekalkulasi Ahn dkk. (1994).

Konsentrasi	***Streptococcus mutans***	***Staphylococcus aureus***
0 %	-	-
10 %	+	+
20 %	+	+
30 %	+	+
40 %	+	+
50 %	+	+
60 %	+	+
70 %	++	++
80 %	++	++
90 %	++	++
100 %	++	++

Keterangan : - : tidak ada respon hambatan; + : respon hambatan lemah; ++ : respon hambatan sedang.

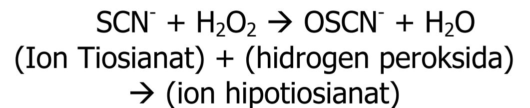
Dari tabel 3.3 dapat diketahui bahwa menurut prekalkulasi Ahn dkk. (1994), ekstrak serbuk kayu siwak pada konsentrasi 10 % hingga 60 % termasuk antibakterial yang bersifat lemah, baik terhadap bakteri *Streptococcus mutans* maupun *Staphylococcus aureus.* Pada konsentrasi 70 % hingga 100 %, ekstrak serbuk kayu siwak dikategorikan sebagai antibakterial yang bersifat sedang di dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus.*

Mekanisme penghambatan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak serbuk kayu siwak ini diduga dikarenakan adanya kandungan zat antibakterial seperti trimetilamin, nitrat, klorida, sulfat, tiosianat dan fluoride.

Trimetilamin adalah senyawa amina tersier yang sederhana, tidak berwarna dan dapat larut di dalam air, alkohol, metanol dan ether. Trimetilamin biasanya digunakan sebagai bahan utama sintesa kimia senyawa kolin, trimetil amonium hidroksida, *dye* (pewarna), pestisida dan agen antiseptik (Anonymous, Chemical-land, 2005). Sifat-sifat yang dimiliki oleh trimetilamin ini dapat merusak tegangan permukaan lapisan membran sel sehingga membran sel kehilangan sifat permeabilitasnya. Membran sel berfungsi menjaga integritas komponen-komponen seluler. Apabila sifat permeabilitas pada membran sel hilang, maka aliran keluar masuknya bahan-bahan dan zat-zat tertentu akan terganggu, sehingga dapat menganggu metabolisme dan menyebabkan rusaknya sel yang dapat menyebabkan kematian pada bakteri.

Nitrat, klorida dan sulfat dilaporkan oleh Darout dkk (2000) dapat mengganggu transport aktif bakteri dengan cara merubah suasana pH. Perubahan pH akan menyebabkan tanggapan sel bakteri berubah, sehingga mempengaruhi transportasi aktif bakteri di dalam menyalurkan nutrisi mineral dan asam anorganik. Volk dan Wheeler (1993) melaporkan bahwa kerja mineral dan asam anorganik bergantung pada dissosiasi ion hidrogen (H^+). Apabila kondisi pH berubah, maka mineral dan asam anorganik akan berikatan dengan ion hidrogen membentuk asam yang akan menganggu proses transportasi aktif pada bakteri.

Tiosianat dapat berperan sebagai substrat bagi laktoperoksida untuk membangkitkan hipotiasianat ($OSCN^-$) dengan bantuan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hipotiasanat dapat bereaksi dengan kelompok sulfhydril pada enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang dapat menyebabkan bakteri menjadi mati. (Darout dkk., 2000). Carlsson dkk (1983) melaporkan bahwa bakteri mulut dapat memproduksi hidrogen peroksida. Enzim laktoperoksida mengkatalisis oksidasi tiosianat dengan bantuan hidrogen peroksida menjadi hipotiosianat dengan reaksi sebagai berikut :



$$SCN^- + H_2O_2 \rightarrow OSCN^- + H_2O$$

(Ion Tiosianat) + (hidrogen peroksida) → (ion hipotiosianat)

Hipotiosianat ini merupakan senyawa antibakterial lemah yang dapat mengambil alih substrat spesifik sulfhydril pada bakteri sehingga menjadi inaktif.

Fluoride merupakan bentuk ion dari unsur halogen fluorine (F). Fluoride telah terbukti memiliki efek antibakteri, sebagaimana dinyatakan oleh Be Kien Nio (1982). Fluoride memberikan pengaruh terhadap metabolisme organisme di dalam mulut dengan cara menghambat proses glikolisis dan menghalangi transport glukosa ke dalam sel. (Satari, 1990). Hal ini terjadi dikarenakan fluoride mendenaturasi protein dan menginaktifkan enzim pada membran sel sehingga metabolisme bakteri terganggu.

BAB IV
KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

1. Konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak dari 0% hingga 100% menunjukkan adanya pengaruh penghambatan dimana dengan semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka zona terang yang dihasilkan juga semakin besar.
2. Pada *S. mutans,* diameter zona terang terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 16,33 mm dan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11,33 mm*.* Demikian pula *S. aureus*, zona hambatan terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 15,83 mm sedangkan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11 mm
3. Bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* dengan mempergunakan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5% menunjukkan beda nyata antara kontrol dengan konsentrasi 10%.
4. Ekstrak serbuk kayu siwak menurut klasifikasi Ahn dkk (1994) adalah termasuk antibakterial sedang mulai dari konsentrasi 70% sampai dengan 100% dan termasuk antibakterial lemah pada konsentrasi 10% sampai dengan 60%.

4.2. Saran

Saran penulis untuk penelitian berikutnya adalah :

1. Penelitian uji antimikrobial ekstrak serbuk kayu siwak pada mikroba lainnya, seperti jamur, ragi atau protozoa.
2. Mempergunakan teknik ekstrak dengan Fluida Supercritis yang diyakini menghasilkan ekstrak yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ahn, Y.J., S.H. Chae, I.H. Jeong dan D.H. Choi (1994), Growth inhihibiting effect of Coptis japonica root-derived Isoquinoline Alkaloid on Human Intestinal Bacteria, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vlol.VII.
2. Al-Khateeb T.L., D.M. O'Mullane, H. Whelton dan M.I. Sulaiman, 1991, Periodontal treatment needs among Saudi Arabian adults and their relationship to the use of the Miswak*, Research Jou*rnal, King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia.
3. Al-Lafi T. dan H. Ababneh, 1995, The effect of the extract of the miswak (chewing sticks) used in Jordan and the Middle East on oral bacteria, *Research Journal*, University of Wales College of Medicine, Dental School, Periodontology Department, Cardiff, UK.
4. Almas, K., 2003, The effect of Salvadora persica extract (miswak) and chlorhexidine gluconate on human dentin: a SEM study, *The Journal of the Contemporary Dental Practise*, Vol. 3, no. 3, August 15, 2002.
5. _________, 1993, Miswak and its Role in Oral Health, *Research Journal,* Postgraduate Dentist Middle East.
6. _________, 1999, Miswak : A Cultural and Scientific Heritage, *Saudi Dental Journal* 1999 May-August.
7. Anonymous, 2005, Chemical-Land, www.chemical-land.com.
8. Be Kien Nio, 1982, *Preventive Dentistry*, Bagian ke-2, Yayasan Kesehatan Gigi Indonesia, Bandung.
9. Benson, H.J., 1998, *Microbiological Application : Laboratory Manual in General Microbiology*, McGraw-Hill Book Co., New York, USA.
10. Capuccino, J. G. dan N. Sherman, 2001, *Microbiology : A Laboratory Manual*, Soxth Edition, Benjamin Cummings, San Fransisico.
11. Carlsson, J., Y. Iwami,, dan T. Yamada, 1983, Hydrogen Peroxide Excretion by Oral Streptococci and Effect Lactoperoxidase-Thyocianite-Hydrogen Peroxide, *Infection and Immunity Journal*, American Society for Microbiology.
12. Cason, J. and H. Rapoport, 1992, *Laboratory Text in Organic Chemistry*, Second Edition, Prentice Hall Inc., New Jersey
13. Chan, E.C.S., W. Al-Joburi, S.L. Cheng dan F. Delorme, 1989, In Vitro Susceptibilties of Oral Bacterial

Isolates to Spiramycin : Antimicrobial Agents and Chemotherapy, *Journal of Pharmacology*, American Society for Microbiology
14. Chen, C., 2001, Periodontitis as a Biofilm Infection, *Journal of The California Fental Association*.
15. Darout, I. A., 2000, Antimicrobial Anionic Components In Miswak Ext*ract*, *Journal Pharmacology*, Department of Odontology, Faculty of Dentistry, University of Bergen, Bergen, Norway
16. Dirks. O. B., 1993, *Fluorida dalam Ilmu Kedokteran Gigi : Pencegahan*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta
17. El-Mostehy, M.R., A.A. Al-Jassem, I.A. Al-Yassin, A.R. El-Gindy dan E. Shoukry, 1998*, Siwak-As An Oral Health Device (Preliminary Chemical And Clinical Evaluation)*, Journal Pharmacology, Department of Odontology, Faculty of Dentistry, University of Kuwait, Kuwait.
18. Gazi, M., T.Saini*,* N.Ashri dan A. Lambourne, 1990, Meswak Chewing Stick versus Conventional Toothbrush as an Oral Hygiene Aid, *Medline Journal.*
19. Gazi, M.I., A.Lambourne dan A.H. Chagla, 1987, The Antiplaque effect of Toothpaste containing Salvadora persica compared Chlorhexidine Gluconate: A Pilot Study, *Medline Journal*, Clinical Prentive Dentsitry, Lippincott co., Philadelphia.
20. Gerrit Bos, 1993, The Miswak, an Aspect of Dental Care in Islam, *Medical History*, vol. 37
21. Greenwood, 1995, *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test*, Antimicrobial and Chemoterapy.
22. Hardie J. dan Ahmed K., 1995, The Miswak as an aid in oral hygiene, *Dental Journal*, J Philipp Dental Assocation
23. Kartikasari, D., 1995, Pengaruh Minyak Atsiri Temu Hitam (Curcuma aeroginosa Roxb) terhadap biakan bakteri Staphylococcus aureus dan Shigella dysenthriiae secara in vitro, *Skripsi*, Universitas Airlangga, Surabaya.
24. Michalek, S.M. dan J.R. Mc Ghee, 1982, *Dental Microbiology*, Fourth Edition, Harper & Raw Publisher, Philadelphia.
25. Nurfalah, Laela, 1996, Uji Daya Antibakterial Pasta Gigi yang Mengandung Siwak dengan Pasta Gigi yang Tidak Mengandung Siwak terhadap Sterptococcus mutans, *Skripsi*, Fakultas Kedoketran Gigi Universitas Padjajaran, Bandung
26. Pelczar, M.J. dan S. Chan, 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*, UI-Press, Jakarta.
27. ____________________, 1988, *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*, UI-Press, Jakarta.
28. Roeslan, B., Melanie Errawan, 1988, Sintesis Glukan oleh GT-ase Streptococcus mutans : mekanisme pembentukan plak gigi, *Majalah Ilmiah FKG Usakti*, Th. III, No. 9, Universitas Trisakti, Jakarta.
29. Schlegel, H.G., 1994, *Mikrobiologi Umum,* edisi keenam, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
30. Satari, H.M., 1990, Pengaruh larutan Natrium Florida terhadap Streptococcus mutans dalam upaya pencegahan karies, *Tesis*, Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran, Bandung.
31. Tjitrosoepomo, G., 1996, *Taksonomi Tumbuhan I,* Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
32. _______________, 1998, *Taksonomi Tumbuhan 2,* Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
33. Tortora, G.J., *l*., 2001, *Microbiology an Introduction,* Addison Wesley Longman Inc., San Fransisco, USA.
34. Todar, K., 2002, *Staphylococcus*, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, www.bact.wisc.edu.
35. Vardit. R.C., 1992, The Siwak: A Medieval Islamic Contribution to Dental Care, *Journal of the Royal Asiatic Society*, ser. 3, vol. 2
36. Volk, W.A. dan Margareth F.W., 1993, *Mikrobiologi Dasar*, Edisi kelima, Jilid I, Penerbit Erlangga, Jakarta.
37. Zamroni, Ahmad, 2003, Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula pada Minuman Terh Terfermentasi (Kombucha) terhadap Aktivitas Antibakterial, *Skripsi*, Program Studi Biologi, FMIPA, ITS, Surabaya